

未来社会創造事業 探索加速型

「共通基盤」領域

終了報告書(探索研究期間)

令和2年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名:米倉 功治]

[理化学研究所 放射光科学研究センター・グループディレクター /
東北大学 多元物質科学研究所・教授]

[研究開発課題名:微小結晶構造の自動・高精度電子線解析]

実施期間 : 令和2年11月1日～令和5年3月31日

§1. 研究実施体制

(1)「自動・高精度構造解析」グループ(理化学研究所)

① 研究開発代表者: 米倉 功治(理化学研究所 研放射光科学研究センター、グループディレクター / 東北大学 多元物質科学研究所、教授)

② 研究項目

- ・ 微小結晶からの電子回折と単粒子解析の像の自動測定・解析技術の開発。
- ・ 微小結晶から高精度かつ高分解能の解析。
- ・ 単粒子解析の高度化
- ・ X線自由電子レーザー(XFEL)との相補解析
- ・ 次世代機の要素技術の検討。

§2. 研究実施の概要

ミクロンからサブミクロンサイズの微小結晶や薄膜結晶より電子回折を測定し、構造を解明する電子線三次元結晶構造解析は、低・中分子から蛋白質まで多種多様な分子の構造解析に大きな可能性を秘めた技術である。一方、構造既知の試料を対象とした手法の実証的な研究に留まり、X線回折に比較して方法論は確立しておらず、応用についても未開拓の余地が大きかった。本課題では、これまで難しかった立体構造未知の試料を対象に、微小結晶からの電子回折の自動測定・解析技術の開発、微小結晶から高精度かつ高分解能での構造解析の実現を目指した。加えて、クライオ電子顕微鏡の単粒子解析の高度化、次世代機の要素技術の開発・検討等を行った。

電子線三次元結晶構造解析には、数百 nm 以下の薄い結晶が適し、厚い試料ではデータの品質は顕著に劣化する。また、試料形態の制限からデータを測定ができない領域が残ってしまい、構造決定に至らないこともある。構造解析の難しいこのような有機化合物の微小結晶に対して、X線自由電子レーザー(XFEL)を用いた高効率な構造解析技術を開発した。テスト試料として、ローダミン 6G という有機蛍光分子の詳細な構造を決定し、この構造と電子回折により得られた構造を比較した。その結果、化学結合の種類によって変わる水素原子の結合距離を判別し、X線と電子線の両線源で異なる散乱体を識別する精度を持つことが分かった。さらに、原子座の信頼性は XFEL の方が高く、一方で電子線は電荷に対して高い感度を持つことを明らかにした。以上により、機能に直結する詳細な構造特性の解明のために、両手法を相補的に利用することの有用性が示された。開発した技術の汎用性は高く、立体構造が知られていない新規合成化合物の構造解析にも成功し、論文を準備している。

生理的なイオン環境下の蛋白質の構造決定に用いるクライオ電子顕微鏡の単粒子解析では、1.1 Å 台の高分解能構造解析を達成し、蛋白質の安定部位にあるほぼ全ての水素原子と、負に帯電したアミノ酸の側鎖の電荷を可視化することに成功した。さらに、この手法でも、化学結合の種類に依存した水素原子の結合距離を判別する精度を持つことを示し、化学的特性・機能の解明へ向け新たな可能性を拓いた。

他に、AI データ測定の高度化を進め、要素技術として、電子分光装置の視野拡張、ステージの精度と安定性、カメラ、試料加工技術等を調査し、次世代クライオ電子顕微鏡の実現に向けた検討を行った。